

Celem naszych badań jest lepsze zrozumienie podstaw genetycznych i mechanizmów molekularnych leżących u podłoża odpowiedzi roślin na połączone ze sobą stresy środowiskowe: infekcję bakteryjną i niedobór żelaza (Fe). Fe jest niezbędnym mikroelementem dla każdego żywego organizmu. Odgrywa istotną rolę w procesach metabolicznych, takich jak synteza DNA, oddychanie, fotosynteza i jest kofaktorem wielu enzymów. Fe odgrywa również ważną rolę w odpowiedzi organizmów żywych na stres biotyczny wywołany infekcjami bakteryjnymi i wirusowymi - patogeny konkurują z gospodarzami o Fe. Związek między odpornością na patogeny a dostępnością Fe jest również dobrze udokumentowany u roślin. Mechanizmy kontrolujące utrzymanie homeostazy Fe u roślin, patogenów i drobnoustrojów niepatogennych odgrywają kluczową rolę w interakcjach pomiędzy rośliną a bakterią. Niedobór Fe, który ogranicza wzrost roślin i wielkość plonów, szczególnie w glebach alkalicznych, jest również szeroko rozpowszechnionym problemem w rolnictwie. Należy zaznaczyć, że aż jedna trzecia powierzchni użytków rolnych na świecie to gleby wapienne, w których wysokie pH powoduje wytrącanie się Fe w postaci wodorotlenków mało przyswajalnych dla roślin. W efekcie powoduje to poważne zaburzenie ich fizjologii wywołanych niedoborem Fe.

Zarówno rośliny, jak i bakterie wykształciły różne efektywne strategie pobierania Fe z gleby, które są oparte na procesach zakwaszania, chelatowania oraz redukcji. Jednym z procesów determinujących interakcję roślin z glebą, jest produkcja wysięków korzeniowych. Korzenie roślin wydzielają do ryzosfery bioaktywne cząsteczki, zwane wysiękiem korzeniowym, które mogą modyfikować mikrobiom gleby. Związki te należą do różnych klas chemicznych, m.in. kumaryn. Kumaryny to grupa metabolitów wtórnych wytwarzana przez rośliny w odpowiedzi na bodźce środowiskowe. Kumaryny wydzielane do ryzosfery przez korzenie biorą udział w wielu procesach determinujących interakcje roślin ze środowiskiem glebowym. Ostatnio, kilka grup naukowych, w tym nasza, wykazało iż wydzielanie kumaryn jest niezbędne do pozyskiwania Fe w warunkach jego niedoboru przez roślinę modelową - *Arabidopsis thaliana*. Co istotne, odkryto również ważną rolę jaką pełnią kumaryny w odporności roślin na infekcje. Wykazano, że są one wydzielane do gleby, gdzie przekształcają mikrobiom korzeniowy w roślinach pozbawionych Fe i prawdopodobnie chronią takie rośliny przed chorobotwórczymi grzybami. Jednak dokładne mechanizmy leżące u podstaw powyższych procesów nie zostały dotychczas poznane.

Dostępne dane literaturowe wskazują na istotny związek pomiędzy utrzymaniem homeostazy Fe, biosyntezą i akumulacją kumaryn a odpornością roślin. Aby lepiej poznać i scharakteryzować istotność tych korelacji i procesów, wykorzystamy w badaniach zmienność genetyczną pomiędzy naturalnymi populacjami (ekotypami) *Arabidopsis* i zbadamy ich zróżnicowaną odporność na infekcje roślinnymi patogenami z rodzaju *Dickeya* spp. Bakterie należące do tego rodzaju powodują mokrą zgniliznę niszczącą uprawy ziemniaka i wiele innych ekonomicznie istotnych upraw. W projekcie zaplanowaliśmy wykorzystanie modelowego układu *Dickeya* spp./*Arabidopsis*, który będzie wykorzystany przez nas w celu zbadania jaki wpływ na przebieg infekcji bakteryjnej ma dostępność Fe oraz akumulacja kumaryn w korzeniach i wysiękach korzeniowych. W tym celu będziemy prowadzić duże hodowle, każda składająca się z około 100 tych samych ekotypów *Arabidopsis* wybranych z kolekcji HapMap, w kulturach hydroponicznych w warunkach różnych stresów środowiskowych. Pierwszą hodowlę stanowić będą rośliny hodowane w warunkach niedoboru Fe, (2) kolejną rośliny hodowane w warunkach niedoboru Fe oraz inokulowane wybranym szczepem bakteryjnym z rodzaju *Dickeya* spp., (3) następną zaś grupę stanowić będą rośliny poddane infekcji tym samym szczepem bakteryjnym ale w warunkach optymalnego poziomu Fe. Kultury hydroponiczne pozwalają na ścisłą kontrolę składu mikro- i makroelementów pożywki hodowlanej, w tym brak Fe. W trakcie analiz, pobierzemy próbki materiału roślinnego, w których oznaczymy poziom Fe i kumaryn przy użyciu wysokoprzepustowych metod jonomicznych i metabolomicznych (ang. ionomics and metabolomics). Następnie przeprowadzimy badania asocjacyjne na skalę całego genomu (ang. GWAS), które pozwolą na zidentyfikowanie związków między polimorfizmami pojedynczego nukleotydu (SNP) a różnorodnością badanych cech fenotypowych. Badania GWAS zostały po raz pierwszy wykorzystane w genetyce człowieka już ponad dziesięć lat temu. Obecnie jest to rutynowo stosowana metoda w celu identyfikacji czynników leżących u podłoża zmienności genetycznej wielu cech, w tym ważnych cech agronomicznych i użytkowych roślin.

Przeprowadzimy również szczegółowe analizy funkcjonalne genów kandydujących wytypowanych jako potencjalnie odpowiedzialne za zróżnicowaną wrażliwość roślin na infekcje *Dickeya* spp., oraz zróżnicowaną akumulacją kumaryn i żelaza. Badania te pozwolą nam na identyfikację nieopisanych dotychczas elementów szlaku syntezy kumaryn związanych z „walką o żelazo”. Biorąc pod uwagę fakt, że niedobory Fe w diecie są poważnym globalnym problemem zdrowia publicznego, dotyczącym aktualnie nawet dwa miliardy ludzi na całym świecie, proponowane przez nas badania stają się niezwykle cenne nie tylko z punktu widzenia poznawczego, ale potencjalnie również aplikacyjnego.